

STIMULY PRE VÝSKUM A VÝVOJ

Názov projektu: Úloha reaktívnych astrocytov v myšacom modeli sklerózy multiplex: Systematický proteomický prístup

Druh projektu: Základný výskum

Číslo projektu: 2018/14573:7-26C0

Riešiteľ: DB Biotech, a.s.
Popradská 80, 040 01 Košice

Doba riešenia: 12/2018 – 11/2021

Vytvorenie/udržanie pracovných miest

vo výskume a vývoji:

3 nové pracovné miesta

Štruktúra novovytvorených pracovných miest:

- 3 vedecký pracovníci

5 udržaných pracovných miest

Štruktúra udržaných pracovných miest:

- 3 vedecký pracovníci

- 2 technický pracovníci

Zodpovedný riešiteľ: prof. Dr. Tomáš Dobránsky, PhD.

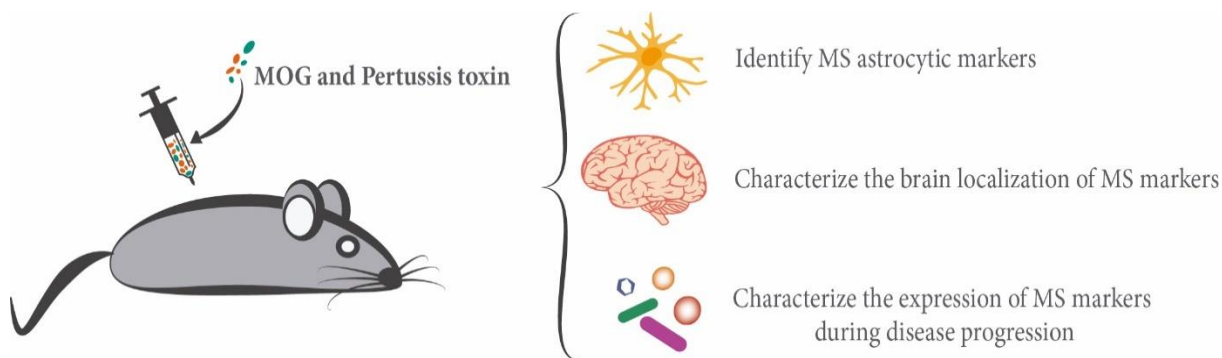
Riešenie projektu za rok 2019:

Skleróza multiplex (SM) je autoimunitné neurologické ochorenie, ktorým trpí celosvetovo okolo 2,5 milióna ľudí, postihujúce hlavne populáciu stredného, produktívneho veku. SM je klinicky sprevádzaná hlavne motorickými poruchami a poruchami kognitívneho prejavu, ale aj poruchami zraku a reči. Sprievodný patologický prejav - demyelinácia axónov rôznej úrovne progresie, výrazne narušuje integritu a celkovú funkciu neurónov. Astrocyty ktoré predstavujú majoritnú populáciu gliových buniek podporujúcich a ochraňujúcich neuróny, zohrávajú aj dôležitú úlohu pri infiltrácii periférálnych imunitných buniek do centrálnej nervovej sústavy (CNS). Pri traumatických poraneniach mozgu, prípadne indukcii zápalu v CNS následkom ochorenia veľmi často neznámej etiológie - čo je tiež prípadom SM – dochádza často k astrocytóze a vzniku sub-populácie reaktívnych astrocytov, ktoré môžu byť asociované so zápalovými procesmi, podporujúcimi progres ochorenia. Tieto pro-zápalové bunky nazývame A1 astrocyty. Ide o bunkovú populáciu, ktorej presné funkcie nie sú popísané, charakterizácia zápalových procesov regulujúceho proteomu (súbor proteínov aktívne sa zúčastňujúcich riadenia patologických procesov v CNS) sú v posledných rokoch predmetom intenzívneho výskumu.

Hlavným zámerom uvedeného projektu základného výskumu je identifikácia nových proteínových markerov asociovaných s patológiou SM. Tieto markery môžu zohrávať kľúčovú úlohu pri presnej a rýchlej diagnostike SM, ale aj pre vývoj účinnej liečby tohto progresívneho, devastujúceho

ochorenia. Pre uvedené štúdie sme zvolili myšací model SM, Experimentálnu Autoimunitnú/Alergickú Encefalomyelitídu (EAE). Ide o model akútnej demyelinácie axónov pomocou proteínu MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein), ktorý sa imunodeficientným myšiam aplikuje subkutánne. Schéma výskumného modelu je zobrazená na obrázku 1. Pomocou špecifických proteínov bunkovej diferenciácie vieme identifikovať A1 reaktívne astrocyty v primárnych kultúrach kortexu EAE myšiek, prípadne pripraviť obohatené kultúry cieľových astrocytov derivovaných z primárnych kultúr centrálného kortexu. Charakterizácia zápalového proteomu sa sústreďuje v rámci tohto projektu na dva proteíny asociované so zápalovými procesmi v CNS: 1. Komplement C3 proteín; 2. CD68 proteín, ktorý je produkovaný aktivovanými monocytmi, infiltrovanými z krvi do CNS, prípadne produkovaný makrofágmi. Oba proteíny sú veľmi bohaté na interakcie a prenos zápalových signálov v rámci cieľových buniek. Charakterizácia odpovedajúcich signálnych dráh je jedným z hlavných cieľov uvedeného projektu.

Veľmi dôležitou súčasťou projektu je dizajn a príprava monošpecifických klonálnych protilátok, ktoré budú použité pre identifikáciu A1 astrocytov, pre identifikáciu C3 komplementu a CD68, aj nových identifikovaných proteínov v rámci týchto štúdií.



Obrázok č. 1.: Postup izolácie a charakterizácie zápalových A1 astrocytických markerov EAE

Plánované úlohy výskumu za rok 2019 boli splnené. Máme pripravený myšací model EAE pre uvedené štúdie, dizajnovali sme a pripravili monošpecifické protilátky identifikujúce cieľové proteínové markery A1 astrocytov – C3 a CD68. Protilátky sú momentálne v procese klonovania a finalizácie pre aplikácie v imunohistochemii, imunocytochemii, aj pri ďalších technikách proteínového výskumu v laboratóriu. Pomocou proteínovej hmotnostnej spektrometrie, budeme identifikovať v ďalšom období proteíny interagujúce s C3 a CD68 a charakterizovať ich signálne dráhy a ich úlohu v procese SM.

Koncom roka 2019 sme publikovali vedeckú prácu týkajúcu sa funkcie C3 komplementu pri zápalových procesoch v CNS, publikovanú v *Current Pharmacology, Impakt Faktor 4,6* (Cardoso PL, De Lima IBQ, Maciel EMA, Silva NC, Dobransky T, Ribeiro FM. 2019. *Curr Neuropharmacol* 17: 1071-1095. doi: 10.2174/1570159X17666190603170511).